

M. Perrot, en une très intéressante causerie d'une dizaine de minutes, donne ensuite quelques détails sur la récente session du Maroc.

M. P. Dangeard fait la communication suivante :

L'évolution des grains d'aleurone en vacuoles ordinaires pendant la germination du Pin maritime

PAR M. PIERRE DANGEARD FILS.

On se représente généralement les vacuoles de la cellule végétale comme de larges cavités remplissant la presque totalité du corps cellulaire et qui renferment un liquide tenant en dissolution plus ou moins étendue des substances variées. Cette idée s'explique assez bien, car c'est l'aspect de beaucoup le plus fréquent qui s'observe dans les tissus des plantes, lorsqu'elles sont à l'état de vie active et qu'elles contiennent une grande proportion d'eau. C'est l'opinion qu'exprime Chodat dans la nouvelle édition de ses principes de Botanique, en admettant que les vacuoles renferment une vraie solution dans l'immense majorité des cas.

La conception qui a été formulé par M. P. A. Dangeard¹ dans ces dernières années est toute différente : les vacuoles même très riches en eau, renferment une solution colloïdale d'une substance à laquelle il donne le nom général de métachromatine. Cette substance est susceptible de précipiter à l'intérieur de la vacuole sous forme de corpuscules métachromatiques ; ces corpuscules précipitent en particulier sous l'influence de la déshydratation et ce seraient eux qui, dans les organes complètement déshydratés, assureraient la formation de vacuoles nouvelles à la reprise de la végétation. On voit toute l'importance de cette conception nouvelle de la cellule, car elle est

¹ DANGEARD (P. A.), *La métachromatine chez les algues et champignons* (Bull. Soc. Bot. Fr., 1916).

susceptible de changer nos idées, en particulier sur le rôle de l'osmose.

On peut s'assurer facilement, grâce à la méthode des colorations vitales, que les organes d'une plante, lorsqu'ils sont peu riches en eau, ne contiennent pas de grandes vacuoles dans leurs cellules, mais ne sont pas dépourvus cependant d'appareil vacuolaire.

Leurs cellules renferment soit des éléments qui sont presque à l'état solide et qui ont la valeur de corpuscules métachromatiques, soit des éléments plus ou moins hydratés de métachromatine, remarquables par leurs formes variées de filaments ou de réseau, que M. Dangeard a nommé des « métachromes ». Guilliermond¹ qui les a désignés d'abord sous le nom de mitochondries, les appelle maintenant « primordia des vacuoles », mais à tort puisque ces primordia sont précédés par des corpuscules métachromatiques.

Ces métachromes en raison surtout de leur forme, ont été confondus avec des mitochondries, en particulier dans le cas où ils sont teints de bonne heure par l'anthocyane comme dans les jeunes pétales du rosier. On en avait déduit à tort qu'ils représentaient des chondriocentes élaborateurs de l'anthocyane. Nous avons montré dans le cas particulier du *Taxus baccata* que les métachromes des cellules embryonnaires d'épiderme se transformaient en vacuoles ordinaires à tannin par une simple hydratation et l'apparition d'un composé tannique. Ainsi pas plus les tannins que l'anthocyane ne préexistent dans les vacuoles très jeunes : ces corps apparaissent plus ou moins tôt sur le support de métachromatine.

Or jusqu'ici, on n'avait observé l'évolution des vacuoles que dans les jeunes bourgeons ou dans les méristèmes. Nous nous sommes proposé de rechercher sous quel état se présentait l'appareil vacuolaire dans les graines et de suivre ses transformations au cours de la germination. Cette étude est intéressante parce que le point de départ est un stade bien défini et en outre à peu près complètement dépourvu d'eau.

Nous avons choisi comme objet d'étude la graine et les très

1. GUILLIERMOND (A.), *A propos de la constitution morphologique du cytoplasme* (C. R. Ac. Sc., CLXII, p. 123.)

jeunes plantules de Pin (*Pinus maritima*) et nous avons utilisé les méthodes suivantes : 1° les colorations vitales qui nous renseignent sur l'état réel du vacuome; 2° les procédés de la microchimie pour caractériser les substances renfermées dans les vacuoles à un stade donné; 3° la méthode de Regaud pour mitochondries qui a été pour nous un moyen de contrôle.

L'embryon. — Les graines de Pin maritime sont riches à la fois en huile et en aleurone. Ces deux produits de réserve sont abondants dans l'endosperme et dans l'embryon. Toutes les cellules en sont bourrées. L'embryon renferme même un peu d'amidon. Ces graines ont par conséquent des propriétés nutritives très remarquables.

Les vacuoles à aleurone de l'embryon ont habituellement la forme de grains d'une substance protéique renfermant un gros globoïde réfringent. Les plus gros d'entre eux se trouvent dans le parenchyme cortical des cotylédons et de l'hypocotyle. L'épiderme a aussi ses cellules remplies de ces corpuscules, mais ceux-ci sont ordinairement sans inclusions et ils se présentent à l'observation comme des globules pleins, d'un diamètre sensiblement inférieur à celui des vacuoles du parenchyme.

En coloration vitale, les grains d'aleurone du parenchyme montrent leur calotte protéique colorée : le globoïde reste incolore. Au contraire les grains de l'épiderme se colorent ordinairement dans leur totalité et d'une façon homogène par le bleu de crésyl. Il n'y a pas métachromasie. Cette coloration des vacuoles aleuriques a déjà été signalée dans l'Orge par Guilliermond¹.

La coloration à l'hématoxyline après fixation au liquide de Regaud, permet de reconnaître que la substance protéique du grain se colore seule sous forme d'un croissant ou d'une calotte chromatique. Dans l'épiderme, ces grains se teignent en noir, d'une façon homogène : quelques grains seulement ont une substance chromatique répartie diversement.

Les caractères de la substance protéique fondamentale du grain d'aleurone, nous font reconnaître dans cette substance la

1. GUILLIERMOND (A.), *Recherches cytologiques sur la germination des graines de quelques Graminées* (Arch. d'Anat. microsc., t. X, fasc. II).

métachromatine telle que M. P.-A. Dangeard¹ l'a définie, c'est-à-dire le corps qui existe dans toutes les vacuoles et qui donne à celles-ci ses principales propriétés.

Nous retrouverons cette métachromatine dans toutes les transformations qui ont lieu à la germination.

La plantule. — Ces transformations se montrent de bonne heure. Déjà, après que la graine a été mise à germer pendant vingt-quatre heures, on peut voir des modifications sensibles du vacuome. En premier lieu, il est devenu métachromatique, d'autre part certains métachromes ont changé de forme, ils sont aplatis ou en *s*. On se rend compte qu'ils sont soumis à des pressions qui les déforment et ils se moulent autour des globules d'huile qui les pressent; ces déformations s'accroissent pendant les deuxième et troisième jours de germination. Après quatre ou cinq jours, les métachromes très effilés et très contournés ne sont plus tous indépendants, ils se soudent entre eux et les aspects de réseaux deviennent fréquents. Au stade de réseau très élégant et très délié, succède un stade de réseau aggloméré. Le vacuome devient spongieux et on passe facilement de ce stade à celui des vacuoles ordinaires.

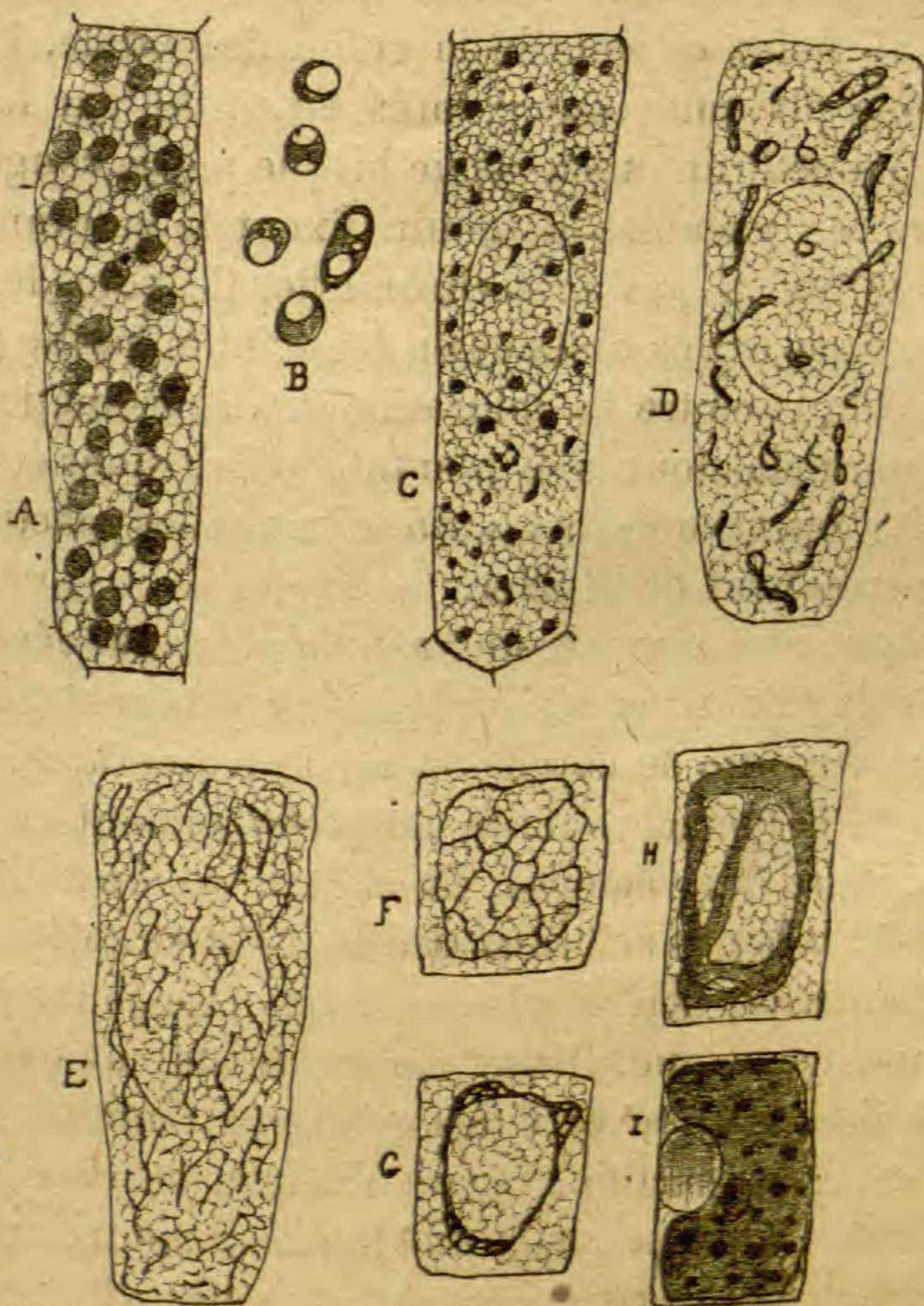
Tous ces stades ne se succèdent pas dans toutes les cellules en même temps, mais sur une plantule d'âge donné l'un des stades figuré est le stade dominant. En outre, dans une même plantule, il y a une évolution des vacuoles plus avancée dans l'hypocotyle que dans les cotylédons, et dans les cotylédons, l'évolution est plus précoce à la base qu'au sommet.

Apparition du tannin des vacuoles. — Au point de vue chimique, la modification la plus importante est l'apparition du tannin à leur intérieur. Les composés tanniques sont absents dans l'embryon et dans la plantule jusqu'au quatrième ou cinquième jour. Leur apparition coïncide avec l'ouverture de la coque de la graine qui se fait vers ce moment. Les vacuoles épidermiques de la radicule, puis de l'hypocotyle, s'imprègnent les premières, puis les cotylédons à partir de la base jusqu'au sommet.

La pointe des cotylédons reste longtemps dépourvue de

1. P.-A. DANGEARD, *La structure de la cellule végétale et son métabolisme* (C. R. Acad. Sc., t. CLXX, p. 709, 22 mars 1920).

tannin, et cela tant que les cotylédons logés à l'intérieur de l'endosperme jouent un rôle absorbant. Dès que les cotylédons se sont épanouis, les cellules même de la pointe du cotylédon



Explication des figures. — Toutes les cellules représentées sont des cellules épidermiques des cotylédons colorées vitalement au bleu de crésyl. Dans les figures C, D, E, F, le noyau est représenté par son contour; ailleurs il n'est pas visible. Les cellules sont bourrées de globules d'huile juxtaposés au milieu desquels on observe les corpuscules du vacuome.
 A, cellule de l'embryon avec grains d'aleurone; B, grains d'aleurone du parenchyme de l'embryon; C, cellule d'une plantule de 24 heures; D, cellule d'une plantule de 48 heures; E, stade plus âgé filamenteux du vacuome; F, G, H, stades réticulés (le vacuome G renferme du tannin); I, stade vacuole adulte avec globules précipités à l'intérieur de la vacuole.

se chargent de produits tanniques. A ce moment, on peut dire que tout l'épiderme de la plantule est tannifère à quelques exceptions près (cellules stomatiques).

L'apparition de ce nouveau produit dans le vacuome n'est pas

liée à un stade morphologique précis, c'est ordinairement au stade figuré *G* que les vacuoles présentent quelques traces de ce corps.

Mais la présence de composés tanniques a une conséquence importante au point de vue de la coloration vitale. Les méta-chromes de la plantule sont colorés en violet par le bleu de crésyl et en jaune brun ou en rouge brique par le rouge neutre. Au contraire les vacuoles à tannin fixent le colorant sans le faire virer, il n'y a pas métachromasie. Ce sont les mêmes résultats que nous avons obtenus en étudiant la feuille du *Taxus baccata*. La limite entre la coloration métachromatique et la coloration normale pour une plantule d'âge donné, coïncide avec la limite des vacuoles à tannin telle que les réactifs micro-chimiques permettent de la fixer.

Par exemple, une plantule qui a un épiderme dépourvu de tannin dans la moitié supérieure des cotylédons ne présente aussi que cette moitié de cotylédon métachromatique.

La cause de la métachromasie est probablement un état plus ou moins basique des vacuoles. En effet, le rouge neutre est un réactif très sensible des acides et des bases et sa solution qui est rose en présence des acides, vire au brun et au jaune en milieu très légèrement basique. Il se comporte de même dans les vacuoles où il a pénétré et il les colore de l'une ou de l'autre façon suivant leur réaction. Quant au bleu de crésyl, il ne se comporte pas de la même façon que le rouge neutre en présence des acides et des bases; cependant en coloration vitale son virage se produit habituellement dans les mêmes cellules qui font virer le rouge neutre. Il y a là, en ce qui concerne la métachromasie de ce colorant, un point inexpliqué.

Il est certain néanmoins que les vacuoles de l'épiderme jusque-là légèrement basiques deviennent acides, et qu'elles le deviennent par suite de l'apparition d'un tannin à leur intérieur.

Je n'ai pas pu réaliser la coloration des vacuoles de l'embryon par le rouge neutre: je ne connais donc pas leur réaction. Si l'on s'en tient aux résultats que donne le bleu de crésyl, on peut dire que le vacuome, d'abord colorable en bleu, se teint dès les premiers jours de la germination en violet métachromatique, puis redevient colorable en bleu dans les vacuoles tannifères.

Le vacuome d'une même cellule épidermique a donc successivement trois réactions différentes qui se font suite sur un court laps de temps.

L'anthocyane. — L'évolution chimique du vacuome ne s'arrête pas à la formation du tannin dans beaucoup de cellules. En effet, de nombreuses cellules, soit de l'hypocotyle soit des cotylédons, forment de l'anthocyane et prennent une couleur rosée, de telle sorte qu'une plantule âgée possède un hypocotyle brillamment coloré. La formation de ce nouveau produit commence de très bonne heure : on la constate sur des plantules de 1 cm. et elle débute dans la partie moyenne de l'hypocotyle. Le fait remarquable, c'est que l'anthocyane est toujours précédée dans la vacuole par le composé tannique, bien que, au stade où l'on observe l'anthocyane pour la première fois, la présence du tannin soit toute récente dans le vacuome. On savait déjà qu'il y avait une liaison étroite entre ces deux substances : nos recherches confirment cette opinion.

En résumé nous avons obtenu les résultats suivants dans cette étude :

Le vacuome de l'embryon est formé de grains d'aleurone qui sont de petits corpuscules dont la substance fondamentale albuminoïde est de la métachromatine. Ce vacuome, après être passé par des états filamenteux ou réticulés, suivant le degré d'hydratation et les pressions subies à l'intérieur du cytoplasme, s'imprègne successivement de tannin, en ce qui concerne la majorité des cellules épidermiques, et d'anthocyane pour certaines d'entre elles. L'évolution du vacuome et la formation du tannin se font d'abord dans l'hypocotyle, puis à la base des cotylédons; la pointe des cotylédons subit les mêmes transformations et forme aussi du tannin, mais plus tard, et seulement lorsque les cotylédons n'ont plus de rôle absorbant au contact de l'endosperme.

L'apparition du tannin rend la vacuole acide et provoque la disparition du phénomène de la métachromasie, ce qui est conforme à ce que nous avons déjà observé dans l'If.

A la suite de cette communication, MM. Mangin, Perrot et Morquer échangent, avec l'auteur, quelques obser-

vations relatives à la définition de certains termes et à quelques détails de technique.

M. A. Guillaumin présente ensuite la Note ci-après :

Nouvelles formes de jeunesse de plantes de Nouvelle-Calédonie

PAR M. A. GUILLAUMIN.

A diverses reprises, j'ai attiré l'attention sur l'abondance des formes de jeunesse que présentent les végétaux de la Nouvelle-Calédonie. Dans son dernier envoi, reçu le 10 janvier 1920, M. Franc, à qui j'avais signalé le fait, a compris plusieurs formes de jeunesse très intéressantes :

1 *Tieghemopanax fraxinifolius* R. Vig. — Déjà connue¹.

2. Une *Araliacée* que je n'ai pu déterminer mais qui paraît appartenir au même groupe que les *Meryta* et dont les feuilles sont d'abord incisées jusqu'à la côte, puis seulement lobées, enfin totalement entières.

3. *Dysoxylum Balansæanum* CDC. — Les feuilles de la forme jeune qui proviennent d'un tronc recepé sont imparipennées, à 5-6 paires de folioles longues de 3 cm. au plus sur 0,5 cm. environ de largeur, lobées très profondément presque jusqu'à la côte. Les feuilles adultes qui proviennent de l'extrémité d'une branche du même tronc, sont paripennées, à 3-4 paires de folioles oblongues-obovales, absolument entières.

C'est une preuve de plus que le genre *Meliadelpha* n'est que la forme jeune du genre *Dysoxylum*².

4. *Codia obcordata* Brong. et Gris? — Les feuilles sont glabres, largement obovales (11-15 × 8 cm.), arrondies-tronquées au

1. VIGUIER (R.) et GUILLAUMIN (A.), *Les formes de jeunesse des Araliacées de Nouvelle-Calédonie* (Not. Syst., II (1912), p. 225-262); GUILLAUMIN (A.), *Les Araliacées de serre chaude originaires de Nouvelle-Calédonie* (Rev. Hort., 1912, p. 491-493.)

2. GUILLAUMIN (A.), *Le genre Meliadelpha et la forme de jeunesse des Dysoxylum* (Not. Syst., II (1913), p. 373-374).